

Actomyosin 系に対する Thoulet's Reagent の作用

—Glycerol 筋に対する Thoulet's Reagent の作用 (I)—

落 合 侑

札幌医科大学生理学教室 (主任 永井教授)

The Effect of Thoulet's Reagent on Actomyosin-System

—The Effect of Thoulet's Reagent on Glycerinated Muscle Fibers (I)—

By

TAKASI OCHIAI

Department of Physiology, Sapporo University of Medicine
(Chief: Prof. T. NAGAI)

筋肉模型としての glycerol 筋が adenosinetriphosphate (ATP) により短縮し、その短縮は actomyosin (AM) と ATP との間の相互作用によりもたらされるということは、従来多くの研究により確められている^{1)~3)}。

一方 M. Pryor^{4),5)} I. Banga⁶⁾ 等によつて腱が Thoulet's reagent* (K_2HgI_4) により短縮する事実も早くから研究されている。最近 L. Varga⁷⁾ 及び K. Laki⁸⁾ 等は glycerol 筋及び AM thread も Thoulet's reagent により短縮することを報告しているが、M. F. Morales⁹⁾ 等は Laki 等の論文に言及して、この事実は ATP によつてなされる腰筋線維の収縮の本質に対して問題を提起すると述べている。

故に著者は AM 系に対する Thoulet's reagent の作用を検討し、その作用機構を明かにすべく先ず glycerol 筋に対する Thoulet's reagent の作用を検討し、ATP の作用と比較せんとした。

実験方法

A) glycerol 筋: A. Szent-Györgyi¹⁰⁾ の方法に従い家兎腰筋線維より作製し、8~14 日処理のものを使用した。実験に際し室温で 20% glycerol に 1 時間放置後、荷重を加えない実験ではすべて 50×0.3 mm の小線維に分け、荷重を加えた実験では 20×0.3 mm に分けた後、いずれの場合も 0.16 M KCl 溶液でそれぞれ 3 分または 10 分前処理してから使用に供した。

B) Thoulet's reagent: 本実験では次の濃度のものを使用した。

即ち

0.5 M Thoulet's reagent (1.0 M KI+0.5 M HgI_2)

0.35 M Thoulet's reagent (0.7 M KI+0.35 M HgI_2)

0.25 M Thoulet's reagent (0.5 M KI+0.25 M HgI_2)

0.15 M Thoulet's reagent (0.3 M KI+0.15 M HgI_2)

C) ATP: A. Szent-Györgyi¹⁾ の方法に従い精製分離した Ba-塩を実験に際して K-塩とし、0.2% (4×10^{-3} M) 溶液とし、KCl 濃度 0.16 M, $MgCl_2$ 濃度 1.5×10^{-3} M にした。

D) Salyrgan: 10% Igrosin (武田製) を蒸留水で稀釈して 4×10^{-3} M 溶液とした。

E) glycerol 処理腱: 家兎の背部の腱を、glycerol 筋の作製法に準じて $60 \times 2 \sim 3$ mm に分け、細棒とともに両端を固定して 50% glycerol に浸し 0°C にて 48 時間処理後 -20°C に保存した。実験に際し、室温において 20% glycerol で 1 時間洗滌後 40×0.6 mm の小線維に分けた。

F) 実験操作

実験 I: glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮

a) 荷重なき場合: 4 群の glycerol 筋を 0.16 M KCl で 3 分前処理後、各濃度の Thoulet's reagent に浸して時間の経過に従い、おのおのの長さを 5 分まで測定した。短縮率は丸山¹¹⁾ の方法により求めた。

b) 荷重を加えた場合: 丸山^{12),14)} 等の法に従い、等張性積緯を用いて、0.16 M KCl で 10 分前処理せる glycerol 筋の、各濃度の Thoulet's reagent 及び 0.2% ATP による短縮を、kymographion に装置した煤紙上に描記した。荷重は 50, 100, 150, 200 mg を使用した。

* Thoulet's reagent は Nessler's reagent (Laki), KI-cycle (Morales) と同じものである。本論文では Pryor に従い、Thoulet's reagent なる表現を用いた。

実験2: glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮に及ぼす各種 ion の影響

a) K^+ 濃度の影響: 0.15 M Thoulet's reagent 中の K^+ 濃度を順次増加せしめて 0.3~1.9 M $[K]$ とし, 0.16 M KCl で3分前処理せる glycerol 筋をそれぞれ各溶液に4分浸した後, 短縮率を測定した。

b) Mg^{++} 及び Ca^{++} の影響: 0.15 M Thoulet's reagent 中に $MgCl_2$ 及び $CaCl_2$ をべつべつに, それぞれ $5 \times 10^{-3} M$, $5 \times 10^{-2} M$, $5 \times 10^{-1} M$ の割合に含ましめ, 0.16 M KCl で3分前処理した glycerol 筋を各溶液に4分浸した後短縮率を測定した。

実験3: glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮に及ぼす salyrgan の影響

glycerol 筋を 0.16 M KCl で3分前処理後2群に分ち, 第1群は $4 \times 10^{-3} M$ salyrgan に4分浸した後, また第2群は salyrgan に浸すことなく, それぞれ各濃度の Thoulet's reagent 及び 0.2% ATP に浸した後短縮率を測定した。各溶液に浸した時間は Thoulet's reagent では 0.5 M (2分), 0.35 M (3分), 0.25 M (3分), 0.15 M (4分) で 0.2% ATP は3分である。

実験4: glycerol 腱の Thoulet's reagent による短縮 glycerol 処理腱を用い, 実験3の第2群と全く同操作の後それぞれの短縮率を測定した。

以上実験1~4はすべて室温で行った。

実験5: glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮に及ぼす温度の影響

水槽に浮べたシャーレに各濃度の Thoulet's reagent を入れ, 溶液の温度を $0^\circ C$ ないし $60^\circ C$ に変化させ, 各温度における Thoulet's reagent に, 予め室温の 0.16 M KCl で3分前処理した glycerol 筋を浸した後, 短縮率を測定した。glycerol 筋を浸した時間は実験3の第2群と同様である。なお温度調節範囲は $\pm 1^\circ C$ であった。

実験成績

実験1: Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮

a) 荷重なき場合: Thoulet's reagent を作用させると glycerol 筋は 40~55% 短縮する。しかし溶液の濃度が高いほど短縮率及び短縮速度は大きい (Fig. 1)。

また Thoulet's reagent を作用させると glycerol 筋はやや透明になり且つ著明に弾性を増す。短縮した glycerol 筋を 0.16 M KCl で洗滌してもそのままの長さに留る。また一旦 Thoulet's reagent により短縮した glycerol 筋を空气中で原長まで伸ばした後再び同じ溶液に浸すと再度短縮する。この操作は数回繰り返すことが出来る。短縮及び伸展せしめた後も, glycerol 筋はなお横紋による spec-

trum を明瞭に保持している。

b) 荷重を加えた場合: Fig. 2~4 に示す如く, 0.5 M Thoulet's reagent を作用させると荷重 50~150 mg では glycerol 筋は短縮する。なお短縮が最大に達した後 0.16 M KCl で洗滌しても伸展は見られない。また荷重 200 mg では短縮することなく直に伸展した。しかし短縮の度合は荷重の小なるほど強い。また荷重 50 mg の場合は Fig. 5 の如く Thoulet's reagent の濃度が高いほど短縮の度合も強い。なお対照の ATP ではこの条件では弛緩は来なかった (Fig. 2, 3)。

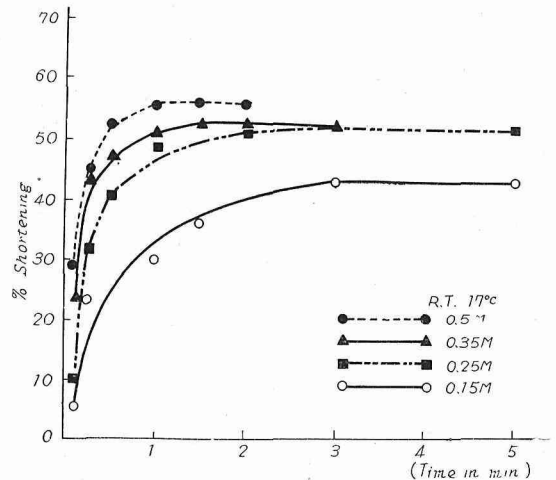


Fig. 1. The shortening of glycerinated muscle fibers in various concentration of Thoulet's reagent.

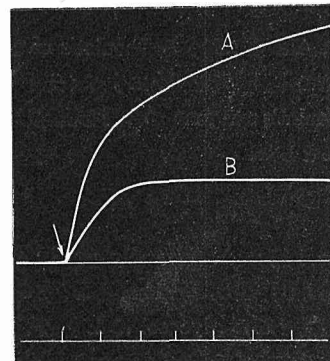


Fig. 2. The shortening of glycerinated muscle fibers by ATP and Thoulet's reagent.

Fiber: glycerinated for 12 days

Load: 50 mg

R. T.: $17^\circ C$

Time marks: 30 sec.

A: ATP (0.2%, $4 \times 10^{-3} M$, 0.16 M KCl, $1.5 \times 10^{-3} M$ $MgCl_2$)

B: Thoulet's reagent (0.5 M)

実験 2: 各種 ion の影響

a) K^+ 濃度の影響: Fig. 6 の如く K^+ 濃度が増すほど短縮率は低くなるが, 使用した K^+ 濃度範囲では僅か 10% の差しか認められない。

b) Mg^{++} 及び Ca^{++} の影響: Fig. 7 の如く Mg^{++} も Ca^{++} もともに Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮に対して抑制的に作用する。

その抑制の度合は, 本実験の濃度範囲では両 ion の濃度が高いほど強いが, 両 ion の短縮抑制には著明な差は認められない。

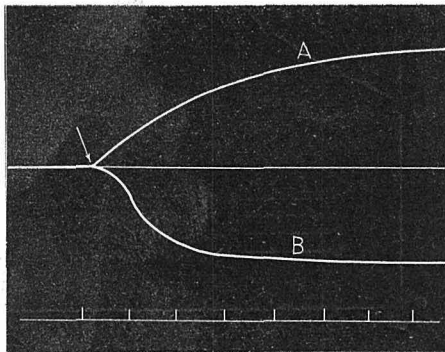


Fig. 3. The shortening of glycerinated muscle fibers by ATP and Thoulet's reagent.

Fiber: glycerinated for 12 days

Load: 200 mg

R. T.: 17°C

Time: 30 sec.

A: ATP (0.2%, 4×10^{-3} M 0.16 M KCl, 1.5×10^{-3} M $MgCl_2$)

B: Thoulet's reagent (0.5 M)

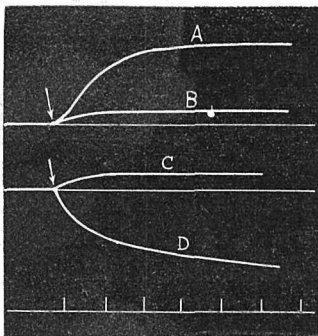


Fig. 4. The shortening of glycerinated muscle fibers by 0.5 M Thoulet's reagent under various loads.

Fiber: glycerinated for 12 days

R. T.: 17°C

Time: 30 sec.

Load: A 50 mg, B 100 mg, C 150 mg, D 200 mg

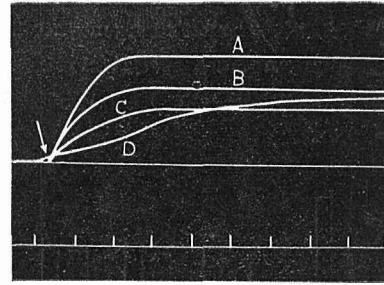


Fig. 5. The shortening of glycerinated muscle fibers in various concentrations of Thoulet's reagent.

Fiber: glycerinated for 12 days

R. T.: 17°C

Time: 30 sec.

Load: 50 mg

A: 0.5 M Thoulet's reagent

B: 0.35 M Thoulet's reagent

C: 0.25 M Thoulet's reagent

D: 0.15 M Thoulet's reagent

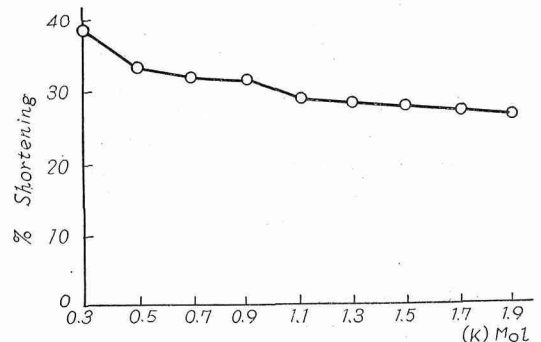


Fig. 6. Effect of various K ion concentrations on the Thoulet's reagent shortening of glycerinated muscle fibers.

Thoulet's reagent: 0.15 M

R. T.: 15°C

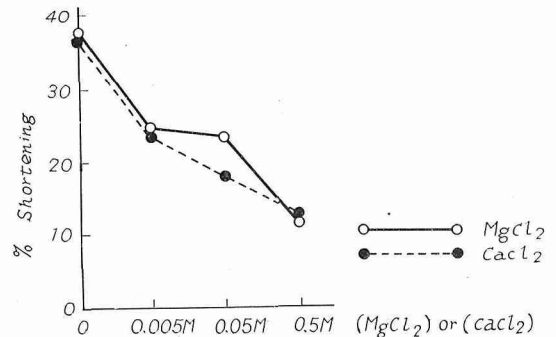


Fig. 7. Effect of Mg or Ca ion concentrations on the Thoulet's reagent shortening of glycerinated muscle fibers.

R. T.: 17°C

実験3: Salyrgan の影響

Fig. 8 に示す如く, Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮は salyrgan で何等影響されないが, 対照の ATP 短縮は salyrgan により著明に抑制され僅に数%の短縮を示すに過ぎない。

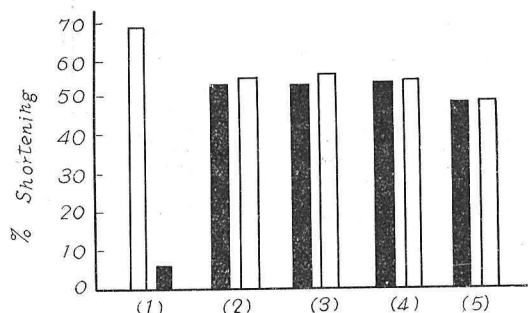


Fig. 8. Effect of salyrgan on the Thoulet's reagent shortening of glycerinated muscle fibers.

- (1) 0.2% ATP
- (2) 0.5 M Thoulet's reagent
- (3) 0.35 M Thoulet's reagent
- (4) 0.25 M Thoulet's reagent
- (5) 0.15 M Thoulet's reagent

The case treated by salyrgan (4 min.) is shown with black column, control with white column.

R. T.: 18°C

実験4: glycerol 腱の Thoulet's reagent による短縮
glycerol 腱を Thoulet's reagent に浸すと著明に短縮する。しかしその短縮の度合は Thoulet's reagent の濃度に比例する。また短縮した腱は半透明になる。しかし 0.2% ATP では全く短縮しない (Fig. 9)。

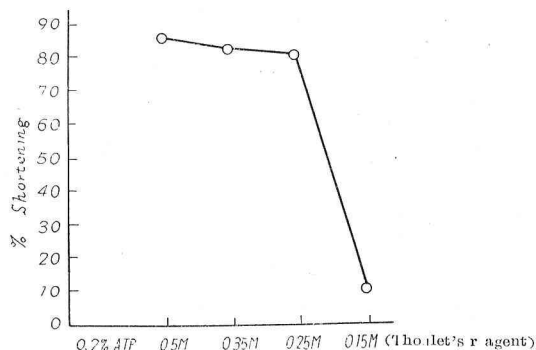


Fig. 9. The shortening of the glycerinated rabbit tendon in various concentrations of Thoulet's reagent.

R. T.: 18°C

実験5: 温度の影響

glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮は Fig. 10 の如く, 低温では少ないが温度の上昇とともに増す。この傾向は低濃度 Thoulet's reagent ほど著明であるが, 0.5 M の高濃度溶液では, 温度の影響は余り著明でない。

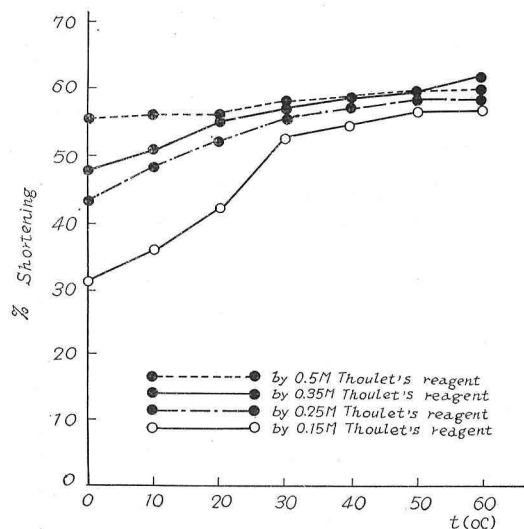


Fig. 10. The effect of temperature on the shortening of glycerinated muscle fibers by Thoulet's reagent.

總括並びに考按

以上の成績について Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮を ATP による短縮と比較しつつ検討する。

1) glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮

a) 荷重なき場合: glycerol 筋を Thoulet's reagent に浸すと大体 40~55% 程度短縮する。しかしその短縮高及び短縮速度は Thoulet's reagent の濃度に比例する。この短縮は数回反復することが出来る。

Pryor¹⁾によつて鳥の腱が Thoulet's reagent で短縮することが初めて報告されて以来, Varga²⁾は glycerol 筋も短縮することを観察し, Laki³⁾等の AM-thread の短縮実験によつて, この短縮は glycerol 筋中に混在している結合組織によるものではなく, AM 自体の短縮によることが証明された。Laki 等はさらに Thoulet's reagent の濃度と短縮高及び短縮速度の関係並びに前述の如き短縮の反復についても述べている。またいずれの研究者によつても Thoulet's reagent は glycerol 筋を短縮させると同時に極めて elastic にするという。

著者の実験ではこれ等の点に関して, 先人の成績とほぼ同様な傾向を認めた。

一方 glycerol 筋を ATP 溶液に浸すと丸山¹¹⁾等及び著

者の実験 3 に示す如く 60~70% 短縮し、また glycerol 筋は丸山が述べた如く透明になる。しかし、この短縮は E. Bozler¹³⁾ が等尺性横桿による実験で述べた如く反復することが出来る。

即ち Thoulet's reagent 短縮と ATP 短縮はともにそれぞれの溶液に浸すことによつて glycerol 筋が透明になること及び短縮を反復させることが出来るという事実等の点において類似するが、Thoulet's reagent の場合は ATP の場合に比して短縮率が少なくまた glycerol 筋の弾性が遙に著明に増加する事実等の点で ATP 短縮とは若干異なる。

b) 荷重を加えた場合：短縮高は Thoulet's reagent の濃度が高いほど大きく、且つ荷重の小なるほど大きい。また荷重 150 mg 以下の場合は等しく短縮のみを示したが、荷重 200 mg の場合は短縮することなく直に伸展した。

一方 ATP 短縮に関しては丸山¹⁴⁾ は ATP 濃度が高いほど短縮高は大きい、0.5% 以上の濃厚 ATP では短縮後に伸展する事実を見ており、これは濃厚 ATP の AM 系への拡散速度と AM に対する解離作用に基くものであると述べており、また Bozler¹³⁾ も同様な事実を見て丸山と同じ見解を述べている。また丸山によれば一定濃度 (0.2%) の ATP 短縮において短縮高は荷重が小なるほど大きく、且つ荷重 400 mg 以下では常に短縮のみを示すが、それ以上の荷重では短縮に引き続き徐々に伸展するという。また永井¹⁵⁾ は ATP による glycerol 筋の伸展は AM の解離反応を内包し、ion 強度を増強した場合と機構において同一であるという見解をとっており、実際丸山¹⁴⁾ は 0.6 M KCl 環境では ATP 添加により直に伸展することを見ています。

以上の荷重下における Thoulet's reagent 短縮の成績を ATP 短縮の成績と比較すれば、短縮高が溶液の濃度に比例すること及び荷重が小なるほど短縮が大きいこと等については両者の間に差は認められない。

しかしながら Thoulet's reagent 短縮の場合、高濃度においても短縮後に伸展することはないという点は ATP 短縮の場合と異なる。また Thoulet's reagent において荷重 200 mg では直に伸展するという点は ATP 短縮についての丸山並びに著者の Fig. 3 の成績に比べれば異なっている。この差は Varga⁷⁾ の Thoulet's reagent により glycerol 筋に発生する張力は ATP の場合の 1/10 であるという報告と関係するかも知れない。しかし Laki⁸⁾ は Varga とは異なり、glycerol 筋の発生張力は Thoulet's reagent と ATP との間に差がないと述べているので、発生張力に関してはさらに精細な検討を要する。

また ATP 短縮の場合は 0.16 M KCl 環境の実験であるに反し、Thoulet's reagent の場合は 0.5 M の濃度のものを使用している点も注意を要する。ATP の場合も 0.6 M 或

はそれ以上の ion 強度下では ATP 添加後直に伸展を来すことは上述したところである。従つて ATP との以上の差異もかかる測定条件の差を考慮に入れねばならない。従つて Thoulet's reagent 短縮と ATP 短縮との間における荷重下の伸展の有無による差も本質的なものであるか否かは、本成績のみから断定することは困難である。

2) ion の影響

K⁺ 濃度の影響

Thoulet's reagent による短縮においては、溶液中の K⁺ 濃度が増加するに従い短縮高はやや減少するが、K⁺ 濃度 1.9 M の場合でも 30% 短縮した。これは K⁺ 濃度 0.3 M の場合に比し、短縮率は約 10% の減少を示しているに過ぎない。

glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮における K⁺ 濃度の影響についての報告は未だない。

一方 glycerol 筋の ATP 短縮における K⁺ 濃度の影響に関して N. K. Sarkar¹⁷⁾ は等尺性横桿を用いて K⁺ 濃度 0.1~0.2 M において最大張力を発生するが、それ以上の塩濃度範囲では張力は減少すると述べ、また A. G. Szent-Györgyi¹⁸⁾ は 0.015~0.5 M KCl 環境で最大の free contraction をするが、それ以上の塩濃度範囲では短縮は抑制され、その抑制は AM の解離に基くと述べており、A. Szent-Györgyi¹⁸⁾ によれば 2 M KCl 環境では AM は全く解離しているという。また丸山¹²⁾ は 0.7 M KCl 環境では短縮率は 20~30% であり最大短縮 (0.05~0.5 M KCl 環境) の 1/3~1/4 の短縮を示すに過ぎないことを見ている。

以上の事実から、Thoulet's reagent 短縮を ATP 短縮と比較すれば、ともに K⁺ 濃度が増加するに従い短縮率は減少するという点では一致するが、Thoulet's reagent の場合は AM の解離がかなり著明であると考えられる 1.9 M の如き高塩濃度においてもかなり短縮するということは、ATP 短縮とは異なることであり、actin 或は myosin 単独をも短縮させる可能性を示唆している。

Mg⁺⁺ 及び Ca⁺⁺ の影響

Thoulet's reagent の場合は両 ion はともにその短縮を抑制するが、抑制の度合は両 ion の濃度に比例する。なお両者の短縮抑制の間に著明な差は認められない。

Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮に対する Mg⁺⁺ 及び Ca⁺⁺ の効果についての報告は未だない。

一方 AM-ATP 系に関しては、両 ion の作用は極めて特異的なものであることが知られているが、その中、glycerol 筋の ATP 短縮と AM の超沈殿にのみ限局すれば次の如くである。即ち W. J. Bowen²¹⁾ は AM-thread について Mg⁺⁺ は ATP 短縮を著明に促進し Ca⁺⁺ は抑制すると報告した。S. Korey²²⁾ も glycerol 筋で Mg⁺⁺ の短縮促進

効果を見ている。丸山²³⁾等はさらに両 ion の濃度関係を検討し、 Mg^{++} は低濃度では Bowen, Korey 等と同様に短縮を促進するが高濃度では抑制するに反し、 Ca^{++} は高濃度でも低濃度でも抑制的に作用すると述べている。一方荷重を加えた実験では Sarkar¹⁷⁾、丸山¹⁴⁾、藤田²⁴⁾はいずれも Mg^{++} の短縮促進を見ているが丸山、藤田、Bozler²⁵⁾等はさらに高濃度 Mg^{++} 及び ATP 存在下では glycerol 筋の弛緩を促進すると述べている。また藤田、Bozler は Ca^{++} が短縮も伸展もともに抑制することを見ている。

また超沈澱については、葛西²⁶⁾、S. S. Spicer²⁷⁾ は glycerol 筋の場合と同様に Mg^{++} は低濃度で促進するが、高濃度では抑制し、 Ca^{++} は抑制すると述べ、麦倉²⁸⁾も Mg^{++} の促進を見ている。

さらに A. Weber²⁹⁾ 及び C. A. Ashley³⁰⁾ 等は Mg^{++} がなければ AM の収縮性は認められないといい、Morales⁹⁾ も AM に ATP が作用する場合は、蛋白の COO Mg^{++} 基であろうと述べている。

以上のことから AM 系の ATP 短縮に対し、 Mg^{++} はその短縮及び弛緩に対して促進的に作用し、 Ca^{++} はともに抑制的に働くといえる。また AM 系に関する多くの研究は、 Mg^{++} と Ca^{++} の拮抗性を証明しているから、両 ion はその収縮蛋白と ATP との相互作用に密接な関連を有していることは明らかである。

以上述べたところに従い、Thoulet's reagent 短縮を ATP 短縮と比較すれば、 Ca^{++} が短縮を抑制することについては両者の間に差はないが、 Mg^{++} に関しては Thoulet's reagent の場合は濃度に関係なく等しく短縮を抑制する点で ATP の場合と異なる。

なお Mg^{++} 及び Ca^{++} が如何にして Thoulet's reagent による短縮を抑制するかは明らかではないが、その抑制機転については、 Ca^{++} 及び Mg^{++} が Thoulet's reagent の解離に対して影響を及ぼすことによる場合と、Thoulet's reagent と AM との結合に対して何等かの影響を及ぼすことに基く場合の 2 つの可能性が考えられるが、果してそのいずれであるかは、本実験から直に明らかにすることは困難である。これは今後検討を要する興味のある問題であろう。

いずれにしても上述の如く Thoulet's reagent 短縮と ATP 短縮との間には各種 ion の影響について著明な差がある。この差は両者の短縮が異なる機轉に基くものであるということを示していると考えられる。

3) Salyrgan の影響

Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮は 4×10^{-3} M salyrgan により殆ど影響を受けない。これに反して ATP 短縮は salyrgan により著明に抑制される。

SH 阻害剤としての salyrgan が Thoulet's reagent 短縮に及ぼす影響についての報告はまだない。

しかし AM 系に関しては従来多くの研究がなされている。即ち K. Bailey & S. V. Perry³¹⁾ は AM と ATP の結合は myosin の SH 基に関係すると述べ、ATP による AM 系の短縮における SH 基の重要性を示唆した。その後 F. Turba³²⁾ 等は actin の重合及び AM と ATP の相互作用が salyrgan などの SH 阻害剤で強く抑制されることを見ており、H. H. Weber³³⁾ も salyrgan で ATPase を抑制すれば ATP の plasticizing action により著明な弛緩が来ると述べている。

一方 A. Szent-Györgyi¹⁾ は Bailey 等の見解に対して積極的な支持を与えず、SH 基を余り重要視していない。Morales⁹⁾ もまた SH 基の重要性は認めているが、それが直に AM 系の短縮に直接的作用があるか否かは疑問であるとしている。

しかしわれわれの教室においては、麦倉²⁸⁾ は AS(III) が AM の超沈澱を強く抑制することを見、丸山²⁰⁾ は salyrgan が glycerol 筋の ATP 短縮を強く抑制することを見ており、salyrgan は pyrophosphate と同様に AM の解離 (derigor¹¹⁾) と ATPase 抑制の両作用を有すると述べている。酒井³⁴⁾ もまた荷重下の実験において salyrgan が或る濃度以上において glycerol 筋を伸展させることを見ている。

以上の如く AM 系に対する SH 基の作用は、たとえ Morales のいう如く、短縮に対して主役を演じないとしても上記の事実から SH 基の阻害が AM 分子間の構造を著しく変え、それによつて二次的に短縮が抑制されることは認められても良いものと思われる。

しかるに本成績は、Thoulet's reagent が salyrgan 処理によりその ATPase は阻害され、或は一部 derigor 的に作用された AM 系をもしからざる場合と同様に短縮せしめることを示している。これは明らかに Thoulet's reagent 短縮が AM 系の SH 基と関係しない process であることを意味し、前記 ATP 短縮とは自から異なつた機轉に基くものであることを示唆している。

4) glycerol 腱の短縮

glycerol 処理腱を Thoulet's reagent に浸すと著明に短縮し、短縮率は glycerol 筋の場合より大である。またその短縮高は Thoulet's reagent の濃度に比例する。しかし ATP では全く短縮しなかつた。

Thoulet's reagent による腱の短縮については、鳥の腱を用いた Pryor³⁵⁾ の実験及び鼠の腱を用いた Banga⁹⁾ の実験が報告されており Banga は 40% の Thoulet's reagent を用いて 67% の短縮を見ている。

著者の成績は Thoulet's reagent により腱が短縮するという事実では Pryor, Banga と一致するが、氏等の成績は glycerol で処理しない腱による荷重下の実験であるのに対し、著者の場合は、glycerol 処理せる荷重なき実験である等の実験材料、実験条件の差があるため短縮高について直に比較することは困難である。

またこの短縮機構について、Pryor は Thoulet's reagent が plasticizer として作用し腱の蛋白分子間の cohesion を弱める結果、entropic に curl up すると述べ、Banga は腱線維が少なくとも 2 つの異なる蛋白分子で構成されていると思われると述べているが、短縮機構についてはなお明らかでないとしている。かくの如く Thoulet's reagent による腱の短縮機構に関しては、まだ明らかでないが、ATP により腱が短縮しないことは ATP の AM に対する特異性と、Thoulet's reagent の AM 系に対する非特異性を示すもので、この点においても両者の短縮機構の差異が示唆される。

5) 温度の影響

Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮において短縮高は 0°C では低く、60°C まで温度の上昇とともに増加する。この傾向は高濃度 Thoulet's reagent では余り著明でないが低濃度では著明である。

しかるに Varga⁷⁾ は Thoulet's reagent により glycerol 筋に発生する張力は 0~25°C においては温度と無関係であると述べ、これに基いて Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮は energy change であろうと Pryor とは異なる見解を述べている。

この Varga の Thoulet's reagent 短縮の成績は著者の成績とは矛盾する。この差は或は、Varga の成績が温度の影響の余り著明でない高濃度の Thoulet's reagent による短縮のみを見ているためではないかと思われる。

一方 ATP 短縮に関しては Varga³⁵⁾ 及び伊藤³⁶⁾ が述べた如く、短縮高は 0°C では低く、温度の上昇とともに増加して、20~30°C で最大に達し、それ以上の高温では再び低下する。この現象について諸家の間に見解の一致を見ないが、A. Szent-Györgyi¹⁾ は ATP 短縮は吸熱 (R_1 反応) と発熱 (R_2 反応) の 2 反応の加算であり、低温に対しては R_1 反応が、高温に対しては R_2 反応がそれぞれ limiting factor となるためであるとの見解を述べ、Varga も ATP 短縮は entropy change であると述べている。しかしながら、これ等の見解は、A. V. Hill³⁷⁾ の筋収縮における熱測定に基く反対もあり、具体性を欠くものであるといわざるを得ない。

これに対し永井³⁸⁾ 及び伊藤³⁹⁾ は、短縮と ATPase activity の温度に関する平行性を示した湯田坂³⁹⁾ の成績に

基き、 R_1 反応は ATP 分解による energy を利用する収縮反応であり、 R_2 反応は温度とともに増加した glycerol 筋の伸張性に基く弛緩反応であるとし、ATP 短縮は ATP 分解の energy を必要とする active な process であり弛緩は passive な process であるという見解に立ち、Varga 及び A. Szent-Györgyi の見解に反対している。また H. H. Weber⁴⁰⁾ は短縮は ATP 分解を伴う不可逆的な process であり、Varga の成績は ATPase による ATP 分解の温度関係を示すに過ぎないと述べ、また Bozler¹³⁾ も弛緩は passive な process であると述べており、Weber, Bozler とともに永井に近い見解をとっている。

しかるに Thoulet's reagent 短縮の成績を ATP 短縮の成績と比較すれば、Thoulet's reagent 短縮では高温においての短縮抑制が見られないという点で ATP の場合と異なる。この差は明かに Thoulet's reagent 短縮が ATP 短縮とは異なる機構に基くものであることを示しており、ATP 短縮が energy change であるという著者等の見解からすれば、Thoulet's reagent 短縮は Pryor⁴⁾ が述べた如く entropy change であると考えるのが妥当であろう。かかる観点からすれば、ATP 短縮が entropy change であり、Thoulet's reagent 短縮は energy change であろうと述べた Varga の見解は正に逆であるといわねばならない。しかし Pryor の見解に対して Bozler¹³⁾ は、plasticizer である pyrophosphate によつて短縮を見ず逆に弛緩がもたらされる事実をあげて異説を述べている点は注意を要する。従つて Thoulet's reagent による短縮が entropic であるとしても、Pryor がいう如く単に plasticizing action によるものか否かはなお問題であろう。

以上各項に亘つて考按してきた如く Thoulet's reagent による短縮と ATP 短縮の間には、各 ion の影響、salyrgan の影響、温度の影響及び腱に対する作用等に関して著明な差があることが明らかに became した。

Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮機構については、上述の如く諸家の間に見解の一致を見ない。Pryor は entropy change を考え、また Varga は energy change であろうとしていることは既に述べた。一方 Laki は Thoulet's reagent の作用を KI の actin に対する脱重合作用と myosin 溶液の流動複屈折の消失に帰せしめ得るかも知れないことを示唆しているが、まだその機構を明らかにするには至っていない。最近 Morales は Laki の成績に基いて、Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮は I^- が筋蛋白珠に actin に烈しく吸着して、その結合を切断することに基づくという entropic な機構を考え、これを以て ATP 短縮を entropic-electrostatic に説明せんとする論拠の一部としているが、著者の成績からも明ら

かな如く, Thoulet's reagent 短縮と ATP 短縮との間には前述した種々の差異があるので, これを同一に論ずることは適当でないものと思われる。

なお, Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮機構については, 著者の成績から直ちに明らかにすることは困難であるが, Thoulet's reagent 短縮が, ATP 短縮とは自から異なる機構に基くものであると考えるべき可能性が大である。

結 論

Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮を検し短縮に及ぼす各種 ion, salyrgan, 温度の影響及び glycerol 処理腱に対する作用について ATP 短縮と比較した。

1) glycerol 筋に Thoulet's reagent を作用させると荷重なき場合は溶液の濃度に比例して 40~50% 短縮する。また荷重を加えた場合は溶液の濃度が大なるほど, 且つ荷重の小なるほど短縮高は大である。

2) Thoulet's reagent 中の K^+ 濃度が増加するに従い短縮率は減小するが, 1.9 M の如き高 K^+ 濃度下でもかなり短縮する。

Mg^{++} 及び Ca^{++} はともにその濃度に比例して Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮を抑制する。

3) Salyrgan は Thoulet's reagent による glycerol 筋の短縮に殆ど影響を及ぼさない。

4) glycerol 処理腱は Thoulet's reagent により著明に短縮するが, これに反し 0.2% ATP では全く短縮しない。

5) glycerol 筋の Thoulet's reagent による短縮は $0^\circ C$ では少く, $60^\circ C$ まで温度の上昇とともに増す。これは低濃度溶液の場合殊に著明である。

以上の成績に基き, Thoulet's reagent による短縮機構について論じ, Varga, Morales 等の見解に対して批判を加えた。

(昭和 30. 12. 20 受付)

文 献

- 1) Szent-Györgyi, A.: Chemistry of Muscular Contraction (1951).
- 2) Weber, H. H. & Portzehl, H.: Advances Prot. Chem. 7, 161 (1952).
- 3) 永井・寺山: 生体の科学 4, 194 (1953).
- 4) Pryor, M.: Prog. Biophys. 1, 512 (1950).
- 5) Pryor, M.: Nature 171, 213 (1953).
- 6) Banga, I. et al.: Nature 174, 788 (1954).
- 7) Varga, L.: Enzymologia 14, 392 (1951).
- 8) Laki, K. & Bowen, W. J.: Biochim. Biophys. Acta 16, 301 (1955).
- 9) Morales, M. F. et al.: Physiol. Rev. 35, 475 (1955).
- 10) Szent-Györgyi, A.: Biol. Bull. 96, 140 (1949).
- 11) 丸山: 札幌医誌 3, 213 (1952).
- 12) 丸山・他: 札幌医誌 4, 87 (1953).
- 13) Bozler, E.: Am. J. Physiol. 167, 276 (1951).
- 14) 丸山・他: 札幌医誌 5, 169 (1954).
- 15) 永井・他: 札幌医誌 5, 154 (1954).
- 16) 丸山: 札幌医誌 8, 156 (1955).
- 17) Sarkar, N. K. et al.: Enzymologia 14, 267 (1950).
- 18) Szent-Györgyi, A. G.: Enzymologia 14, 246 (1950).
- 19) Szent-Györgyi, A.: Nature of Life (1948).
- 20) 丸山: 未刊.
- 21) Bowen, W. J.: Am. J. Physiol. 164, 223 (1952).
- 22) Korey, S.: Biochim Biophys. Acta 4, 58 (1950).
- 23) 丸山・他: 札幌医誌 4, 94 (1953).
- 24) 藤田: 札幌医誌 6, 341 (1954).
- 25) Bozler, E.: Am. J. Physiol. 168, 760 (1952).
- 26) 葛西: 未刊.
- 27) Spicer, S. S.: J. Biol. Chem. 199, 289 (1952).
- 28) 麦倉: 札幌医誌 5, 175 (1954).
- 29) Hasselbach, W. & Weber, A.: Pharmacol. Rev. 7, 97 (1955).
- 30) Aschley, C. H. et al.: Connective Tissues (1953).
- 31) Bailey, K. & Perry, S. V.: Biochim. Biophys. Acta 1, 506 (1947), Cit. 1.
- 32) Kuschnisky, G. & Turba, F.: Biochim. Biophys. Acta 6, 426 (1951).
- 33) Weber, H. H. et al.: Prog. Biophys. 4, 60 (1954).
- 34) 酒井: 未刊.
- 35) Varga, L.: Enzymologia 14, 196 (1950).
- 36) 伊藤: 札幌医誌 5, 291 (1954).
- 37) Hill, A. V.: Nature 167, 377 (1951).
- 38) 永井・他: 札幌医誌 5, 75 (1954).
- 39) 湯田坂: 生体の科学 投稿中.
- 40) Weber, H.H.: Natur 167, 381 (1951).
- 41) 永井: 生体物理化学シンポジウム 投稿中.

Summary

The effects of Thoulet's reagent on glycerinated muscle fibers were studied with the following results.

A. Without load:

1) The glycerinated muscle fiber is rendered highly elastic by immersion in Thoulet's reagent and at the same time, the fiber shows a remarkable shortening (40~55%). The rate and grade of shortening increased with the increase of concentration of the reagent.

2) The grade of shortening decreased with the increase of concentration of K ion in the reagent. However, even in the presence of high K ion concentration (1.9 M) considerable shortening could be observed.

3) The shortening by Thoulet's reagent was inhibited by co-existence of Mg ion or Ca ion equally.

4) Thoulet's reagent (in any concentration) caused a remarkable shortening of glycerinated rabbit tendon, but this phenomena could not be produced by ATP solution.

5) The grade of shortening of glycerinated muscle fiber by Thoulet's reagent increased with the rise of temperature within the range of 0~60°C.

B. With load:

The grade of shortening of glycerinated muscle fiber by Thoulet's reagent increased with the increase of concentration of the reagent. And the decrease of the load caused the increase of the grade of shortening also.

From the present results, the mechanism of shortening of the glycerinated muscle fiber by Thoulet's reagent was discussed.

(Received Dec. 20, 1955)